

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION  
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété  
Intellectuelle  
Bureau international



(43) Date de la publication internationale  
25 août 2005 (25.08.2005)

PCT

(10) Numéro de publication internationale  
**WO 2005/078129 A2**

(51) Classification internationale des brevets<sup>7</sup> : C12Q 1/68

(21) Numéro de la demande internationale :  
PCT/FR2005/050083

(22) Date de dépôt international :  
10 février 2005 (10.02.2005)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :  
0450257 12 février 2004 (12.02.2004) FR

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) :  
BIOMERIEUX [FR/FR]; Chemin de l'Orme, F-69280  
Marcz L'Etoile (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : BRION,  
Aurélie [FR/FR]; 20 rue du Recret, F-69670 Vaugneray  
(FR). LEISSNER, Philippe [FR/FR]; 49 rue Hector  
Berlioz, F-69009 Lyon (FR). BERARD, Cécile [FR/FR];  
8/10 rue Pierre Corneille, F-69006 Lyon (FR).

(74) Mandataire : DENJEAN, Frédérique; Chemin de  
l'Orme, F-69280 Marcy L'Etoile (FR).

(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de  
protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AT,

AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO,  
CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB,  
GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG,  
KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG,  
MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH,  
PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN,  
TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre  
de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH,  
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,  
ZW), eurasién (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),  
européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,  
FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO,  
SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN,  
GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**Déclaration en vertu de la règle 4.17 :**

— relative à la qualité d'inventeur (règle 4.17.iv)) pour US  
seulement

**Publiée :**

— sans rapport de recherche internationale, sera republiée  
dès réception de ce rapport  
— avec la partie réservée au listage des séquences de la des-  
cription publiée séparément sous forme électronique et dis-  
ponible sur demande auprès du Bureau international

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrégia-  
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et  
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de  
la Gazette du PCT.

(54) Title: THROMBOSIS DIAGNOSIS/PROGNOSIS METHOD

**WO 2005/078129 A2** (54) Titre : PROCEDE POUR LE DIAGNOSTIC/PRONOSTIC D'UNE THROMBOSE

(57) **Abstract:** An *in vitro* thrombosis diagnosis/prognosis method comprising the steps of (A) extracting nucleic material from a biological sample; (B) using at least one pair of amplification primers to produce amplicons of at least one nucleic material target sequence; and (C) using at least one detection probe to detect the presence of said amplicons; wherein the primer pair of step (B) includes at least one amplification primer with at least 10 nucleotide units of a nucleotide sequence selected from SEQ ID NO 1, 3 to 8, 15 and 16.

(57) **Abrégé :** L'invention concerne un procédé *in vitro* pour le diagnostic/pronostic d'une thrombose comprenant les étapes suivantes : A - on extrait le matériel nucléaire d'un échantillon biologique, B - on utilise au moins une paire d'amorces d'amplification pour obtenir des amplicons d'au moins une séquence cible du matériel nucléaire C - on utilise au moins une sonde de détection pour détecter la présence desdits amplicons caractérisé en ce que, lors de l'étape B, ladite paire d'amorce comprend au moins une amorce d'amplification comprenant au moins 10 motifs nucléotidiques d'une séquence nucléotidique choisie parmi SEQ ID N° 1 ; 3 à 8, 15 et 16.

# TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS

## PCT

### RAPPORT PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL SUR LA BREVETABILITÉ (chapitre I du Traité de coopération en matière de brevets)

(règle 44bis du PCT)

Référence du dossier du déposant ou du mandataire COAGULAM	POUR SUITE À DONNER		Voir le point 4 ci-dessous
Demande internationale no. PCT/FR2005/050083	Date du dépôt international (jour/mois/année) 10 February 2005 (10.02.2005)	Date de priorité (jour/mois/année) 12 February 2004 (12.02.2004)	
Classification internationale des brevets (8 <sup>e</sup> édition, sauf indication d'une édition antérieure) Voir les informations pertinentes dans le formulaire PCT/ISA/237			
Déposant BIOMERIEUX			

1. Le présent rapport préliminaire international sur la brevetabilité (chapitre I) est établi par le Bureau international au nom de l'administration chargée de la recherche internationale selon la règle 44bis.1.a).

2. Ce RAPPORT comprend un total de 8 feuilles, y compris la présente feuille de couverture.

Dans les feuilles jointes, toute référence à l'opinion écrite de l'administration chargée de la recherche internationale doit être entendue, à la place, comme une référence au rapport préliminaire international sur la brevetabilité (chapitre I).

3. Le présent rapport contient des indications relatives aux points suivants :

- |                                     |               |   |
|-------------------------------------|---------------|---|
| <input checked="" type="checkbox"/> | Cadre n° I    | Base de l'opinion   |
| <input checked="" type="checkbox"/> | Cadre n° II   | Priorité  |
| <input type="checkbox"/>            | Cadre n° III  | Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle  |
| <input type="checkbox"/>            | Cadre n° IV   | Absence d'unité de l'invention  |
| <input checked="" type="checkbox"/> | Cadre n° V    | Déclaration motivée selon l'article 35.2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration |
| <input type="checkbox"/>            | Cadre n° VI   | Certains documents cités  |
| <input type="checkbox"/>            | Cadre n° VII  | Certaines irrégularités relevées dans la demande internationale   |
| <input checked="" type="checkbox"/> | Cadre n° VIII | Certaines observations relatives à la demande internationale  |

4. Le Bureau international communiquera le présent rapport aux offices désignés conformément aux règles 44bis.3.c) et 93bis.1 mais pas avant l'expiration du délai de 30 mois à compter de la date de priorité (règle 44bis.2), sauf si le déposant a présenté une requête expresse à cet égard en vertu de l'article 23.2).

Date d'établissement du présent rapport 14 August 2006 (14.08.2006)	
Bureau international de l'OMPI 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland no de télécopieur +41 22 338 82 70	Fonctionnaire autorisé  Athina Nickitas-Etienne e-mail: pt04@wipo.int

# TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS

Expéditeur : L'ADMINISTRATION CHARGÉE DE  
LA RECHERCHE INTERNATIONALE

REC'D 13 SEP 2005

PCT  
WIPO PCT

Destinataire :

voir le formulaire PCT/ISA/220

OPINION ÉCRITE DE L'ADMINISTRATION  
CHARGÉE DE LA RECHERCHE  
INTERNATIONALE

(règle 43bis.1 du PCT)

Date d'expédition  
(jour/mois/année) voir le formulaire PCT/ISA/210 (deuxième feuille)

Référence du dossier du déposant ou du mandataire  
voir le formulaire PCT/ISA/220

**POUR SUITE À DONNER**  
Voir le point 2 ci-dessous

Demande internationale No.  
PCT/FR2005/050083

Date du dépôt international (jour/mois/année)  
10.02.2005

Date de priorité (jour/mois/année)  
12.02.2004

Classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois classification nationale et CIB  
C12Q1/68

Déposant  
BIOMERIEUX

1. La présente opinion contient des indications et les pages correspondantes relatives aux points suivants :

- ☒ Cadre n° I Base de l'opinion
- ☒ Cadre n° II Priorité
- ☐ Cadre n° III Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle
- ☐ Cadre n° IV Absence d'unité de l'invention
- ☒ Cadre n° V Déclaration motivée selon la règle 43bis.1(a)(i) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration
- ☐ Cadre n° VI Certains documents cités
- ☐ Cadre n° VII Irrégularités dans la demande internationale
- ☒ Cadre n° VIII Observations relatives à la demande internationale

2. **SUITE À DONNER**

Si une demande d'examen préliminaire internationale est présentée, la présente opinion sera considérée comme une opinion écrite de l'administration chargée de l'examen préliminaire international, sauf dans le cas où le déposant a choisi une administration différente de la présente administration aux fins de l'examen préliminaire international et que l'administration considérée a notifié au Bureau international, selon la règle 66.1bis.b), qu'elle n'entend pas considérer comme les siennes les opinions écrites de la présente administration chargée de la recherche internationale.

Si, comme cela est indiqué ci-dessus, la présente opinion écrite est considérée comme l'opinion écrite de l'administration chargée de l'examen préliminaire international, le déposant est invité à soumettre à l'administration chargée de l'examen préliminaire international une réponse écrite, avec le cas échéant des modifications, avant l'expiration d'un délai de 3 mois à compter de la date d'envoi du formulaire PCT/ISA/220 ou avant l'expiration d'un délai de 22 mois à compter de la date de priorité, le délai expirant le dernier devant être appliqué.

Pour plus de détails sur les possibilités offertes au déposant, se référer au formulaire PCT/ISA/220.

3. Pour de plus amples détails, se référer aux notes relatives au formulaire PCT/ISA/220.

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la  
recherche internationale



Office européen des brevets - P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL-2280 HV Rijswijk - Pays Bas  
Tél. +31 70 340 - 2040 Tx: 31 651 epo nl  
Fax: +31 70 340 - 3016

Fonctionnaire autorisé

Knehr, M

N° de téléphone +31 70 340-4277



**OPINION ÉCRITE DE L'ADMINISTRATION  
CHARGÉE DE LA RECHERCHE INTERNATIONALE**

Demande internationale n°  
PCT/FR2005/050083

---

**Cadre n°I Base de l'opinion**

---

1. En ce qui concerne la **langue**, la présente opinion a été établie sur la base de la demande internationale dans la langue dans laquelle elle a été déposée, sauf indication contraire donnée sous ce point.
  - ☐ La présente opinion a été établie sur la base d'une traduction de la langue dans laquelle la demande internationale a été déposée dans la langue suivante , qui est la langue de la traduction remise aux fins de la recherche internationale (selon les règles 12.3 et 23.1.b)).
2. En ce qui concerne la **ou les séquences de nucléotides ou d'acides aminés** divulguées dans la demande internationale, le cas échéant, la recherche internationale a été effectuée sur la base des éléments suivants :
  - a. Nature de l'élément :
    - ☒ un listage de la ou des séquences
    - ☐ un ou des tableaux relatifs au listage de la ou des séquences
  - b. Type de support :
    - ☒ sur papier sous forme écrite
    - ☐ sur support électronique sous forme déchiffrable par ordinateur
  - c. Moment du dépôt ou de la remise :
    - ☒ contenu(s) dans la demande internationale telle que déposée
    - ☐ déposé(s) avec la demande internationale, sous forme déchiffrable par ordinateur
    - ☐ remis ultérieurement à la présente administration aux fins de la recherche
3. ☐ De plus, lorsque plus d'une version ou d'une copie d'un listage des séquences ou d'un ou plusieurs tableaux y relatifs a été déposée, les déclarations requises selon lesquelles les informations fournies ultérieurement ou au titre de copies supplémentaires sont identiques à celles initialement fournies et ne vont pas au-delà de la divulgation faite dans la demande internationale telle que déposée initialement, selon le cas, ont été remises.
4. Commentaires complémentaires :

**voir feuille séparée**

**OPINION ÉCRITE DE L'ADMINISTRATION  
CHARGÉE DE LA RECHERCHE INTERNATIONALE**

Demande internationale n°  
PCT/FR2005/050083

---

**Cadre n° II Priorité**

---

1. ☒ La validité de la revendication de priorité n'a pas été prise en considération car l'Administration chargée de la Recherche Internationale ne dispose pas d'une copie de la demande antérieure dont la priorité est revendiquée ou, si nécessaire, de sa traduction. Cette Opinion a toutefois été établie en supposant que la date pertinente (Règles 43bis.1 et 64.1) était bien la date de priorité.
2. ☐ La présente opinion a été établie comme si aucune priorité n'avait été revendiquée, du fait que la revendication de priorité a été jugée non valable (règles 43bis.1 et 64.1). Dès lors pour les besoins de la présente opinion, la date du dépôt international indiquée plus haut est considérée comme la date pertinente.
3. Observations complémentaires, le cas échéant :  
voir feuille séparée

---

**Cadre n° V Déclaration motivée selon la règle 43bis.1(a)(i) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration**

---

1. Déclaration

Nouveauté	Oui : Revendications	2-5,7-10
	Non : Revendications	1,6,11,12
Activité inventive	Oui : Revendications	
	Non : Revendications	1-12
Possibilité d'application industrielle	Oui : Revendications	1-12
	Non : Revendications	

2. Citations et explications

voir feuille séparée

---

**Cadre n° VIII Observations relatives à la demande internationale**

---

Les observations suivantes sont faites au sujet de la clarté des revendications, de la description et des dessins et de la question de savoir si les revendications se fondent entièrement sur la description :

voir feuille séparée

**Concernant le point II**

**Priorité**

II.1 Les documents D6 et D7 publiés entre la date de priorité et la date de dépôt contiennent des parts (essentielles) de la demande comme revendiquée. Sous la procédure PCT, ces documents sont sans importance pour une opinion quant à la nouveauté et l'activité inventive. Pourtant si le déposant choisit de poursuivre la route européenne, il faut considérer ce qui suit: si après vérification il est établi que la revendication de priorité de la présente demande n'est pas valable pour tout ou partie de l'objet revendiqué, les documents D6 et D7 pourront être cités contre la nouveauté et/ou l'activité inventive (de l'ensemble) des revendications.

**Concernant le point V**

**Déclaration motivée selon la règle 66.2(a)(ii) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration**

2.1 Les documents suivants sont considérés comme pertinents:

- D1: WO 0246476 (ABBOTT LAB) 13 juin 2002 (2002-06-13)
- D2: WO 9732040 (ROYAL INFIRMARY OF EDINBURGH NHS TRUST) 4 septembre 1997 (1997-09-04)
- D3: WO 0220837 (PYROSEQUENCING AB) 14 mars 2002 (2002-03-14)
- D4: US 6335184 (BIO-RAD LABORATORIES) 1 janvier 2002 (2002-01-01)
- D5: REITSMA ET AL: "USE OF THE DIRECT RNA AMPLIFICATION TECHNIQUE NASBA TO DETECT FACTOR V LEIDEN, A POINT MUTATION ASSOCIATED WITH APC RESISTANCE", BLOOD COAGULATION & FIBRINOLYSIS, vol. 7, 1996, pages 659-663
- D6: UGOZZOLI ET AL: "Four-color multiplex 5' nuclease assay for the simultaneous detection of the factor V Leiden and the prothrombin G20210A mutations", MOLECULAR AND CELLULAR PROBES, vol. 18, no. 3, juin 2004 (2004-06), pages 161-166

D7: EP 1398388 (OGHAM GMBH) 17 mars 2004 (2004-03-17)

## 2.2 NOUVEAUTE (Art. 33(2) PCT)

2.2.1 Le document D1 décrit une amorce étant identique avec une suite de 17 motifs nucléotidiques de la SEQ ID NO:6 comme revendiqué, utilisée dans un procédé pour le diagnostic d'une thrombose associée au facteur V Leiden. Au vu de D1, l'objet des revendications 1, 6 et 11, de la présente demande n'est donc pas nouveau.

2.2.2 D2 décrit une amorce oligonucléotidique étant identique avec SEQ ID NO:7 comme revendiqué, utilisée dans un procédé pour la détection de la mutation 20210 de prothrombine. De plus, D2 décrit une trousse utilisable dans un tel contexte. Au vu de D2, l'objet des revendications 1, 11 et 12, de la présente demande n'est pas nouveau.

2.2.3 D3 décrit une amorce étant identique avec une suite de 18 motifs nucléotidiques de la SEQ ID NO:5 comme revendiqué, ainsi que des amorces et des sondes utilisables pour la détection des 20210 de prothrombine et 1691 du facteur V Leiden, et des procédés et des troussees correspondants. Au vu de D3, l'objet des revendications 6, 11 et 12, de la présente demande n'est pas nouveau.

2.2.4 D4 décrit une amorce oligonucléotidique étant identique avec les nucléotides 1-21 de la SEQ ID NO:4 comme revendiqué, et en plus une trousse utilisable dans ce contexte. Au vu de D4, l'objet des revendications 6 et 12 de la présente demande n'est pas nouveau.

2.2.5 La présente demande ne remplit pas les conditions énoncées dans l'article 33(1) PCT, parce que l'objet des revendications 1, 6, 11 et 12, n'est pas conforme au critère de nouveauté défini par l'article 33(2) PCT.

## 2.3 ACTIVITE INVENTIVE (Art. 33(3) PCT)

2.3.1 La demande décrit un procédé in vitro pour le diagnostic/prognostic d'une thrombose en utilisant une paire d'amorces d'amplification comprenant au moins 10 motifs nucléotidiques choisis parmi SEQ ID NOS: 1, 3 à 8, 15 et 16, et au moins une sonde de détection (revendication 1). Ces amorces sont revendiquées elles-mêmes (revendication 6), faisant partie d'une paire d'amorces (revendication 8), et faisant partie d'une trousse pour un tel diagnostic/prognostic (revendication 12). Considérant le contenu de la demande entière, le mode préféré d'un tel procédé est une amplification NASBA (non revendiqué).

2.3.2 L'état de la technique le plus proche peut être considéré comme étant le document D5 qui décrit un procédé de NASBA, spécifiquement appliqué dans le diagnostic/prognostic d'une thrombose en identifiant la mutation 1691 associée au facteur V Leiden. En plus, D5 décrit les motifs nucléotidiques des SEQ ID NOS: 2 et 9 comme revendiqué, faisant partie d'une amorce et d'une sonde de détection.

2.3.3 La différence entre la revendication 1 et D5 est le choix des amorces et des sondes ayant des structures primaires alternatives par rapport à l'art antérieur. Un effet technique relié avec ce choix ou ces oligonucléotides alternatives n'est pas reconnaissable car le but d'être capable de réussir un procédé in vitro pour le diagnostic/prognostic d'une thrombose en utilisant des paires d'amorces d'amplification, suivies par l'utilisation de sondes de détection, est déjà bien décrit dans l'art antérieur, e.g. D3 et D5. Les amorces et sondes de ces documents (utilisés dans des procédés tout-à-fait comparables) présentent les mêmes avantages/caractéristiques que ceux mentionnés dans la présente demande. Par conséquent, un problème à résoudre, ne paraît pas exister.

2.3.4 Seulement définir des nouvelles amorces et sondes de détection n'est pas suffisant pour donner à un tel procédé une activité inventive. Sans des caractéristiques donnant à ces oligonucléotides une sorte de supériorité/amélioration significative vis-à-vis l'art antérieur, aucune activité inventive peut être adjugée.

2.3.5 Aussi les revendications dépendantes 2 à 5, 7, 9 et 10, ne contiennent aucune caractéristique qui, en combinaison avec celles de l'une quelconque des revendications à laquelle elles se réfèrent, définisse un objet qui satisfasse aux exigences du PCT en ce qui concerne l'activité inventive.



**OPINION ÉCRITE DE L'ADMINISTRATION  
CHARGÉE DE LA RECHERCHE  
INTERNATIONALE (FEUILLE SEPARÉE)**

Demande internationale n°

PCT/FR2005/050083

2.3.6 Au vu de ce qui précède, la présente demande ne satisfait pas aux exigences de l'Article 33(3) PCT, car l'objet des revendications 1 à 12 n'implique pas une activité inventive.

**Concernant le point VIII**

**Certaines observations relatives à la demande internationale - Manque de Clarté**

VIII.1 La (partielle) numérotation des revendications n'est pas logique. Selon le contexte, les revendications devraient être corrigées ainsi:  
Revendication 7 étant dépendante de la revendication 6,  
revendication 9 étant dépendante de la revendication 8,  
revendication 10 étant dépendante des revendications 6 ou 7, et des revendications 8 ou 9,  
de même pour les revendication 11 et 12.